

## ⑪ 公開特許公報 (A) 平4-41421

⑫ Int. Cl.

A 61 K 9/12  
9/08  
9/107  
37/02  
37/26  
47/12

識別記号

L	7624-4C
U	7624-4C
U	7624-4C
	8317-4C
	8317-4C
E	7624-4C
Z	7624-4C

⑬ 公開 平成4年(1992)2月12日

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全4頁)

## ⑭ 発明の名称 肺吸収組成物

⑮ 特 願 平2-149545

⑯ 出 願 平2(1990)6月7日

⑰ 発明者 吉田 繼親 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内  
 ⑰ 発明者 関 利光 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内  
 ⑰ 発明者 奥村 勝彦 兵庫県神戸市中央区楠町7丁目5番2号 神戸大学医学部付属病院内  
 ⑰ 発明者 駒田 富佐夫 兵庫県神戸市中央区楠町7丁目5番2号 神戸大学医学部付属病院内  
 ⑰ 出願人 大正製薬株式会社 東京都豊島区高田3丁目24番1号  
 ⑰ 代理人 弁理士 北川 富造

## 明細書

## 3. 発明の詳細な説明

## [産業上の利用分野]

本発明は、蛋白またはペプチドもしくはその誘導体を含有してなる肺吸収組成物に関する。

## [従来の技術および発明の解決すべき課題]

近年遺伝子組換え法、ペプチド合成法の進歩に伴い生理活性ペプチド、蛋白あるいはその誘導体が多数量産され、ペプチド性医薬品、蛋白性医薬品として臨床応用されつつある。しかしこれらのペプチドや蛋白は生体透過性が極めて低く、酵素分解も受け易いため、生体への投与法は一部例外を除き皮下注、筋注、静注に限られている。従って、これら新しい分野の医薬品を開発にわたって、広く普及させるためには、注射剤以外の投与剤形の開発が強く望まれている。

## [課題を解決するための手段]

本発明者は、簡便で且つ効果が速やかに発現する蛋白およびペプチドの経肺投与形態について観察研究の結果、蛋白またはペプチドもしくはその誘導体がグリココール酸塩をはじめとする各種

## 1. 発明の名称

肺吸収組成物

## 2. 特許請求の範囲

1) (A) 蛋白、ペプチドおよびそれらの誘導体からなる群より選ばれた1種または2種以上の化合物および

(B) 水溶液をpH3~4または粉末の場合には水に溶解したときにpH3~4に調整することおよび/または界面活性剤を配合することを特徴とする水性または粉末の肺吸収組成物。

2) ペプチドとしてインスリンを含有することを特徴とする特許請求項1記載の肺吸収組成物。

3) クエン酸により水溶液をpH3~4または粉末の場合には水に溶解したときにpH3~4に調整することを特徴とする特許請求項1または請求項2記載の肺吸収組成物。

界面活性剤共存時、またはpH 3～4の水溶液として投与したときに、蛋白またはペプチドもしくはその誘導体が速やかに体内に吸収され、血中の蛋白またはペプチド濃度が速やかに上昇することを見出し、更にその知見に基づき本発明を完成した。

即ち、本発明は、

(A) 蛋白、ペプチドおよびそれらの誘導体からなる群より選ばれた1種または2種以上の化合物および

(B) 水溶液をpH 3～4または粉末の場合には水に溶解したときにpH 3～4に調製することおよび/または界面活性剤を配合することを特徴とする水性または粉末の肺吸収組成物である。

本発明における蛋白またはペプチドもしくはその誘導体としては、動物から抽出されるもの、合成あるいは遺伝子工学的手法により得られるもの、またそれらから化学的に誘導される誘導体などが含まれる。本発明における肺吸収組成物の投与形態は、蛋白またはペプチドもしくはその誘

導体、分散剤もしくは水溶液および噴射剤を含有するエアゾール組成物であることが好ましい。

本発明における界面活性剤としては、主張に悪影響を与えないものであればよく、各種医薬品のエアゾール製剤に用いられている界面活性剤が使用され得る。好ましい界面活性剤としては、例えば、モノオレイン酸ソルビタン、モノステアリン酸グリセリン、モノバルミテン酸ソルビタン、モノテウリル酸ソルビタン、モノラウリル酸ポリオキシエチレンソルビタン、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどが挙げられる。特に好ましい界面活性剤としては、トリオレイン酸ソルビタン(スパン 85)が挙げられる。

pH 3～4の調節剤としては、主張に悪影響を与えないものであればよく、一般の医薬組成物中に用いられているpH調節剤であればいずれも使用され得るが、特に好ましいpH調節剤としては、クエン酸緩衝剤が挙げられる。

水を使用する場合は、精製水、注射用蒸留水などが使用される。この場合、得られる組成物は、

水性エアゾール製剤である。

これに、前記のような界面活性剤を0.1～5重量%程度含有せしめても良い。

噴射剤としては、種々の生理学的に許容できるガスが使用され得るが、好ましい噴射剤としては、トリクロルモノフルオロメタン、ジクロルテトラフルオロエタン、ジクロルジフルオロメタンもしくはこれらの混合物が挙げられる。

#### [発明の効果]

本発明により、経肺投与形態においてペプチドもしくはその誘導体が速やかに体内に吸収され、血中のペプチド濃度が速やかに上昇した。これにより皮下注、筋注、静注に履されていた投与法が、患者に通院の煩わしさや注射時の苦痛を与えることなくペプチドの投与が可能となった。

#### [実施例]

次に、本発明を実施例および試験例を挙げて具体的に説明する。

#### 実施例1

乾燥空素気流下で、ヒトインスリン5mg、クエン酸40.7mgおよびクエン酸ナトリウム4.3mgをメノウ乳鉢により1～5mmの大きさに粉碎した後、トリオレイン酸ソルビタン100mgを加えて均一に練合した。これにトリクロルモノフルオロメタン、ジクロルフルオルメタンの2：3混合液6gと共に耐圧容器に充填し、定量噴射バルブを詰めてエアゾール製剤を得た。

#### 実施例2

ヒトインスリン5mg、pH 3のクエン酸-クエン酸ナトリウム緩衝液に溶解し全量4mlとした。これをジクロルジフルオルメタン、ジクロルテトラフルオルエタンの3：2混合液1.4gと共に耐圧容器に充填し、定量噴射バルブを詰めてエアゾール製剤を得た。

#### 試験例1

麻酔下、露出させたラット気管切開口よりイン

スリン水溶液(3U/kg)10mlを投与し、各時間における血中インスリン濃度をEIA法により測定した。

(結果)

結果を図1に示す。

図1に示すように界面活性剤であるスパン85、グリココール酸を共存させることにより、バイオアベイラビリティーは著しく上昇した。

試験例2

試験例1に記載の方法に従って試験を行なった。この際、水溶液のpHを変化させ肺からのインスリン吸収を測定した。

(結果)

図2に示すように、投与インスリン水溶液をpH3とすることによりバイオアベイラビリティーはpH7の3倍以上に増加した。

但し、pH3未満では酸性水溶液により肺組織が障害を受けるので好ましくない。

#### 4. 図面の簡単な説明

図1は、インスリンの経肺吸収に対する種々の吸収促進剤の影響を皮下注射の場合と比較観察したものである。

図2は、投与インスリン水溶液のpHを変えた時の血中インスリン濃度を観察したものである。

特許出願人 大正製薬株式会社

代理人 弁理士 北川 富造

図1 インスリンの経肺吸収における種々の吸収促進剤の影響

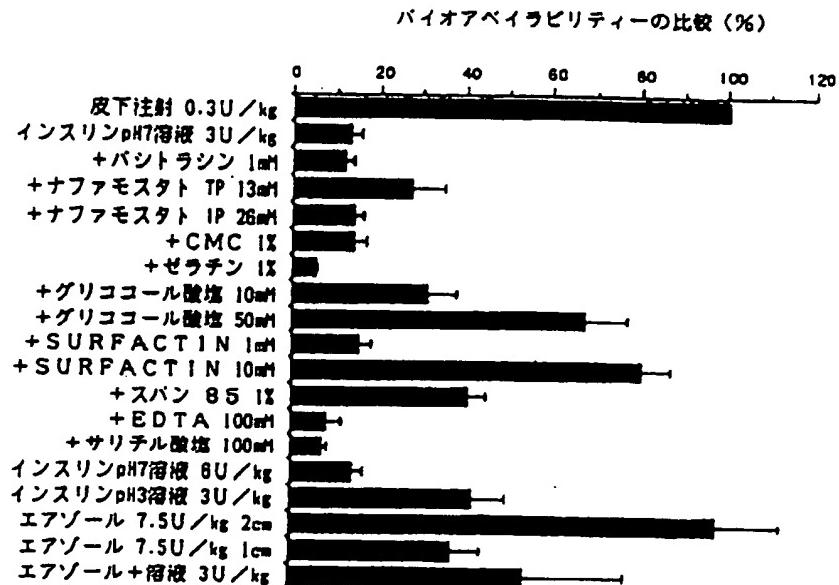
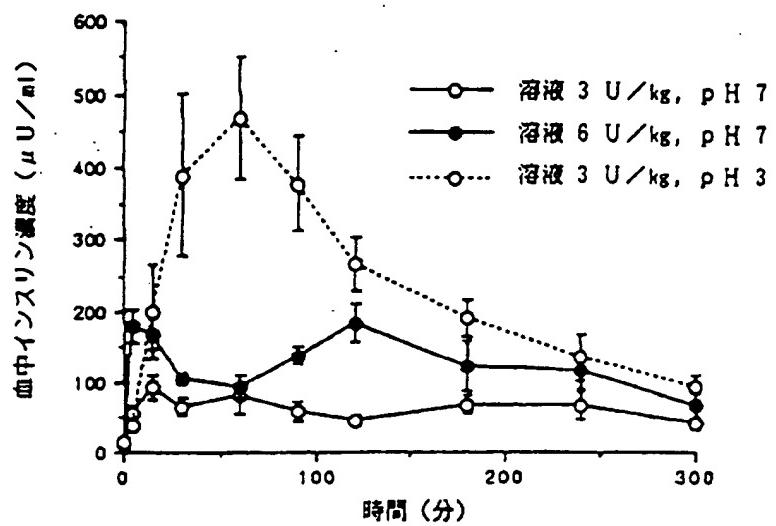


図2 インスリン経肺投与時の血中濃度に及ぼすpHの影響



**GREGOR HARTMANN  
JAPANESE-ENGLISH TRANSLATION  
137 OAK STREET  
RIDGEWOOD, NEW JERSEY 07450-2508  
Voice: 201-445-2263 Fax: 201-445-5025**

TRANSLATION from Japanese to English

**CERTIFICATE OF ACCURACY**

I swear that I am a translator of the Japanese and English languages, a professional provider of translations, accredited by the American Translators Association for Japanese to English translation;

that I am thoroughly familiar with these languages and have carefully made and verified the attached translation from the original document in the Japanese language, to wit:

Laid-open Japanese Patent Application Hei 4-41421  
(Lung-absorbed Composition)

and that the attached translation is a true and correct English version of the original to the best of my knowledge and belief.

Gregor Hartmann      3-11-01  
\_\_\_\_\_  
Gregor Hartmann      Date

19. Japan Patent Office (JP)  
 12. Laid-open Patent Gazette (A)  
 11. Laid-open Patent Application No. Hei 4-41421  
 43. Date Published: February 12, 1992
- 

51.	Int. Cl. <sup>5</sup>	ID No.	Office Control No.
	A 61 K 9/12	L	7624-4C
	9/08	U	7624-4C
	9/107	U	7624-4C
	37/02		8317-4C
	37/26		8317-4C
	47/12	E	7624-4C
		Z	7624-4C

Examination Not Requested Yet  
 Number of Claims: 3 (Total 4 pages)

---

54. Title of Invention: Lung-absorbed Composition  
 21. Application Number: Hei 2-149545  
 22. Application Date: June 7, 1990  
 72. Inventor: [illegible] Yoshida, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.  
 72. Inventor: Toshimitsu Seki, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.  
 72. Inventor: Katsuhiko Okumura, Kobe University Department of Medicine Clinic  
 72. Fusao Komada, Kobe University Department of Medicine Clinic  
 71. Applicant: Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., 3-24-1 Takada, Toshima-ku, Tokyo  
 74. Agent: T. Kitagawa, Patent Agent

## SPECIFICATION

1. TITLE OF INVENTION  
**Lung-absorbed Composition**
2. CLAIMS
- 1) An aqueous or powder lung-absorbed composition, comprising a mixture of:
    - (A) at least one type of compound selected from the group consisting of proteins, peptides, and derivatives thereof, and
    - (B) an aqueous solution of pH 3~4 or if a powder one that is adjustable to pH 3~4 when dissolved in water and/or a surfactant.
  - 2) The lung-absorbed composition recited in claim 1, wherein insulin is included as a peptide.
  - 3) The lung-absorbed composition recited in claim 1 or claim 2, wherein citric acid is used to adjust the aqueous solution to pH 3~4 or if a powder it is adjusted to pH 3~4 when dissolved in water.

### 3. DETAILED EXPLANATION OF THE INVENTION

#### Industrial Field of the Invention

The present invention pertains to a lung-absorbed composition containing a protein or peptide or a derivative thereof.

#### Prior Art and Problems the Invention Is to Solve

In recent years advances in genetic recombination methods and peptide synthesis methods have led to the production of many biologically active peptides, proteins, and derivatives thereof, and peptide pharmaceuticals and protein pharmaceuticals are finding clinical applications. However, these peptide and proteins have very low biopermeability, and are easily broken down by enzymes, so methods of administering them to the body are limited to hypodermic injection, muscle injection, and intravenous injection, except for some special cases. Therefore the development of an agent that can be administered in a form other than injection is urgently needed in order to greatly expand the fields in which these new pharmaceuticals can be used in the future.

#### Means for Solving the Problems

The inventors performed diligent research regarding a configuration in which a protein or peptide could be administered through the lungs in a simple, effective, and fast manner, and as a result they discovered that when a protein or peptide or a derivative thereof coexisted with a surfactant such as glycocholate, or was administered together with a pH 3~4 aqueous solution, the protein or peptide or derivative thereof was swiftly absorbed into the body, and the serum concentration of the protein or peptide swiftly rose, and based on this knowledge they completed the present invention.

Thus, the present invention is an aqueous or powder lung-absorbed composition, comprising a mixture of:

- (A) at least one type of compound selected from the group consisting of proteins, peptides, and derivatives thereof, and
- (B) an aqueous solution of pH 3~4 or if a powder one that is adjustable to pH 3~4 when dissolved in water and/or a surfactant.

The proteins or peptides or derivatives thereof in the present invention are extracted from animals, synthesized, or obtained by genetic engineering methods. They may also be derivatives chemically derived from these. The form in which the inventive lung-absorbed composition is administered should be an aerosol composition including a protein or peptide or derivative thereof, and a dispersant or an aqueous solution and propellant.

The surfactant used in the present invention should be one that does not negatively influence the main drug; the surfactants used in the aerosol forms of various pharmaceuticals can be used. Examples of suitable surfactants are sorbitan monooleate, glycerol monostearate, sorbitan monopalmitate, sorbitan monolaurate, sorbitan monolaurate polyoxyethylene, sorbitan monooleate polyoxyethylene, etc. A particularly desirable surfactant is sorbitan trioleate (Span 85).

Regulators for pH 3~4 should be those that do not negatively influence the main drug; any pH regulator used in ordinary pharmaceutical compositions may be used, but citric acid buffer is particularly desirable as a pH regulator.

If water is used, purified water, distilled water for injections, etc. can be used. In this case the resulting composition is an aqueous aerosol agent.

Here the sort of surfactant described above should be contained in the amount of about 0.1~5 wt%.

Various physiologically approved gases may be used as a propellant, but preferred propellants are trichloromonofluoromethane, dichlorotetrafluoromethane, dichlorodifluoromethane, or combinations thereof.

### Effect of the Invention

As a result of the present invention a peptide or derivative thereof in a form that is administered through the lungs is swiftly absorbed in the body, and serum peptide concentration rises rapidly. As a result, peptides can be administered without troubling patients or causing the pain of injection associated with administration methods limited to hypodermic injection, muscle injection, and intravenous injection.

### Embodiments

Next, the present invention shall be explained in greater detail using embodiments and test cases.

#### Embodiment 1

In a flow of dry nitrogen gas, human insulin 5 mg, citric acid 40.7 mg, and sodium citrate 4.3 mg were pulverized using an agate mortar to a size of 1~5  $\mu\text{m}$ ; then sorbitan trioleate 100 mg was added and uniformly mixed. This was put in a pressure-resistant container together with a 2:3 mixed solution of trichloromonofluoromethane and dichlorofluoromethane 6 g, and a metering spray valve was twisted on to produce an aerosol-type agent.

#### Embodiment 2

Human insulin 5 mg was dissolved in a pH 3 citric acid-sodium citrate buffer solution to make a total of 4 ml. This was put in a pressure-resistant container together with a 2:3 mixed solution of dichlorodifluoromethane and dichlorotetrafluoroethane 1.4 g, and a metering spray valve was twisted on to produce an aerosol-type agent.

#### Test Case 1

An insulin solution (3U/kg) 10  $\mu\text{l}$  was administered via the exposed tracheal incision of an anesthetized rat, and serum insulin concentration over time was measured using the EIA method.

#### Results

FIG. 1 shows the results.

As shown in FIG. 1, bioavailability increased remarkably due to the presence of both Span 85, which is a surfactant, and glycocholate.

#### Test Case 2

A test was conducted by the method described in Test Case 1. This time insulin absorption by the lung was measured while varying the pH of the aqueous solution.

## Results

As shown in FIG. 2, bioavailability was at least three times greater when the pH of the administered insulin solution was 3 compared to when it was pH 7.

However, a pH of less than 3 is an acidic solution, and damages lung tissue, so it is not preferred.

## BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 compares the effect of various absorption enhancers on insulin absorption by the lung compared to hypodermic injection.

FIG. 2 examines serum insulin concentration when the pH of the administered insulin solution is changed.

Applicant: Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.

Agent: T. Kitagawa, Patent Agent

FIG. 1. Effect of Various Absorption Enhancers on Lung Absorption of Insulin

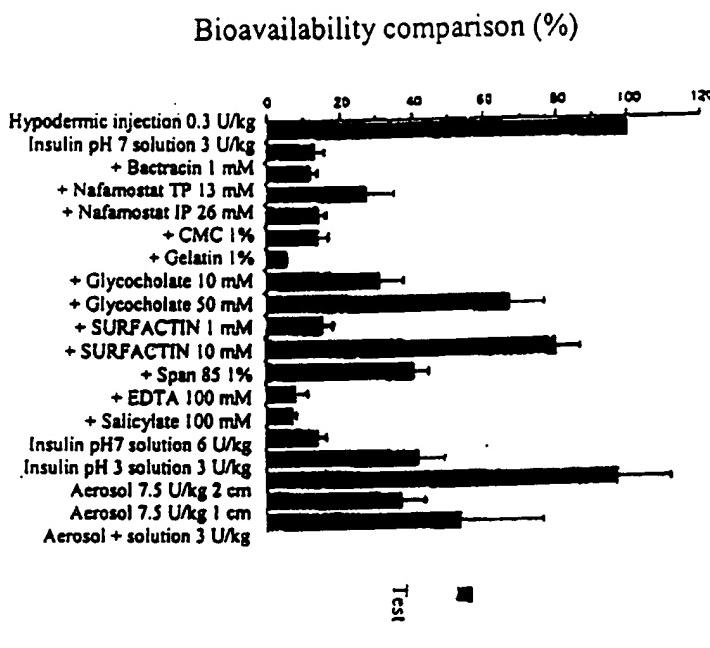
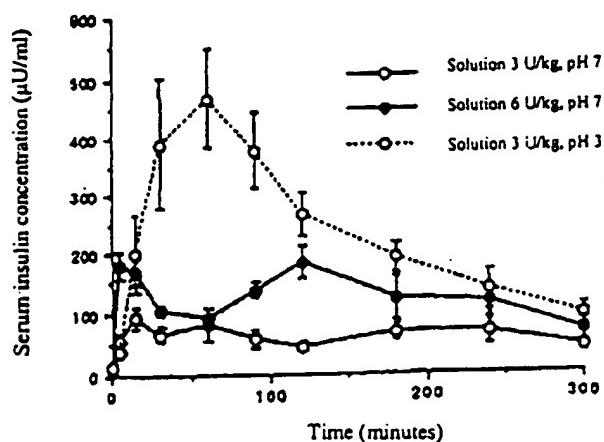


FIG. 2. Effect of pH on Serum Concentration When Insulin Is Administered Via the Lung



## ⑫ 公開特許公報 (A) 平4-41421

⑬ Int.Cl.

A 61 K 9/12  
9/08  
9/107  
37/02  
37/26  
47/12

識別記号

L 7624-4C  
U 7624-4C  
U 7624-4C  
E 8317-4C  
E 8317-4C  
Z 7624-4C  
Z 7624-4C

⑭ 公開 平成4年(1992)2月12日

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全4頁)

## ⑮ 発明の名称 脂吸收組成物

⑯ 特 願 平2-149545

⑰ 出 願 平2(1990)6月7日

⑱ 発明者 吉田 継親 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内  
 ⑲ 発明者 関 利光 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内  
 ⑳ 発明者 奥村 勝彦 兵庫県神戸市中央区楠町7丁目5番2号 神戸大学医学部付属病院内  
 ㉑ 発明者 駒田 富佐夫 兵庫県神戸市中央区楠町7丁目5番2号 神戸大学医学部付属病院内  
 ㉒ 出願人 大正製薬株式会社 東京都豊島区高田3丁目24番1号  
 ㉓ 代理人 弁理士 北川 富造

## 明細書

## 3. 発明の詳細な説明

## [産業上の利用分野]

本発明は、蛋白またはペプチドもしくはその誘導体を含有してなる脂吸收組成物に関する。

## [従来の技術および発明の解決すべき課題]

近年遺伝子組換え法、ペプチド合成法の進歩に伴い生理活性ペプチド、蛋白あるいはその誘導体が多数量産され、ペプチド性医薬品、蛋白性医薬品として臨床応用されつつある。しかしこれらのペプチドや蛋白は生体透過性が極めて低く、酵素分解も受け易いため、生体への投与法は一部例外を除き皮下注、筋注、静注に限られている。従って、これら新しい分野の医薬品を開発にわたって、広く普及させるためには、注射剤以外の投与剤形の開発が強く望まれている。

## [課題を解決するための手段]

本発明者は、簡便で且つ効果が速やかに発現する蛋白およびペプチドの経皮投与形態について調査研究の結果、蛋白またはペプチドもしくはその誘導体がグリココール酸塩をはじめとする各種

## 1. 発明の名称

脂吸收組成物

## 2. 特許請求の範囲

1) (A)蛋白、ペプチドおよびそれらの誘導体からなる群より選ばれた1種または2種以上の化合物 および

(B) 水溶液をpH3~4または粉末の場合には水に溶解したときにpH3~4に調製することおよび/または界面活性剤を配合することを特徴とする水性または粉末の脂吸收組成物。

2) ペプチドとしてインスリンを含有することを特徴とする特許請求項1記載の脂吸收組成物。

3) クエン酸により水溶液をpH3~4または粉末の場合には水に溶解したときにpH3~4に調製することを特徴とする特許請求項1または請求項2記載の脂吸收組成物。

界面活性剤共存時、またはpH 3～4の水溶液として投与したときに、蛋白またはペプチドもしくはその誘導体が速やかに体内に吸収され、血中の蛋白またはペプチド濃度が速やかに上昇することを見出し、更にその知見に基づき本発明を完成した。

即ち、本発明は、

(A) 蛋白、ペプチドおよびそれらの誘導体からなる群より選ばれた1種または2種以上の化合物および

(B) 水溶液をpH 3～4または粉末の場合には水に溶解したときにpH 3～4に調製することおよび／または界面活性剤を配合することを特徴とする水性または粉末の肺吸収組成物である。

本発明における蛋白またはペプチドもしくはその誘導体としては、動物から抽出されるもの、合成あるいは遺伝子工学的手法により得られるもの、またそれらから化学的に誘導される誘導体などが含まれる。本発明における肺吸収組成物の投与形態は、蛋白またはペプチドもしくはその誘

導体、分散剤もしくは水溶液および噴射剤を含有するエアゾール組成物であることが好ましい。

本発明における界面活性剤としては、主に悪影響を与えないものであればよく、各種医薬品のエアゾール製剤に用いられている界面活性剤が使用され得る。好ましい界面活性剤としては、例えば、モノオレイン酸ソルビタン、モノステアリン酸グリセリン、モノバルミテン酸ソルビタン、モノテウリル酸ソルビタン、モノテウリル酸ポリオキシエチレンソルビタン、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどが挙げられる。特に好ましい界面活性剤としては、トリオレイン酸ソルビタン（スパン 85）が挙げられる。

pH 3～4の調節剤としては、主に悪影響を与えないものであればよく、一般の医薬組成物中に用いられているpH調節剤であればいずれも使用され得るが、特に好ましいpH調節剤としては、クエン酸緩衝剤が挙げられる。

水を使用する場合は、精製水、注射用蒸留水などが使用される。この場合、得られる組成物は、

水性エアゾール製剤である。

これに、前記のような界面活性剤を0.1～5重量%程度含有せしめても良い。

噴射剤としては、種々の生理学的に許容できるガスが使用され得るが、好ましい噴射剤としては、トリクロルモノフルオロメタン、ジクロルテトラフルオロエタン、ジクロルジフルオロメタンもしくはこれらの混合物が挙げられる。

#### [発明の効果]

本発明により、経肺投与形態においてペプチドもしくはその誘導体が速やかに体内に吸収され、血中のペプチド濃度が速やかに上昇した。これにより皮下注、筋注、静注に履されていた投与法が、患者に通院の煩わしさや注射時の苦痛を与えることなくペプチドの投与が可能となった。

#### [実施例]

次に、本発明を実施例および試験例を挙げて具体的に説明する。

#### 実施例1

乾燥空素気流下で、ヒトインスリン5mg、クエン酸40.7mgおよびクエン酸ナトリウム4.3mgをメノウ乳鉢により1～5mmの大きさに粉碎した後、トリオレイン酸ソルビタン100mgを加えて均一に混合した。これにトリクロルモノフルオロメタン、ジクロルフルオルメタンの2：3混合液6mlと共に耐圧容器に充填し、定量噴射バルブを詰めてエアゾール製剤を得た。

#### 実施例2

ヒトインスリン5mg、pH 3のクエン酸-クエン酸ナトリウム緩衝液に溶解し全量4mlとした。これをジクロルジフルオルメタン、ジクロルテトラフルオルエタンの3：2混合液1.4gと共に耐圧容器に充填し、定量噴射バルブを詰めてエアゾール製剤を得た。

#### 試験例1

麻酔下、露出させたラット気管切開口よりイン

スリン水溶液(3U/kg)10mlを投与し、各時  
間における血中インスリン濃度をEIA法により  
測定した。

(結果)

結果を図1に示す。

図1に示すように界面活性剤であるスパン85、  
グリココール酸を共存させることにより、バイオ  
アベイラビリティーは著しく上昇した。

試験例2

試験例1に記載の方法に従って試験を行なった。この際、水溶液のpHを変化させ肺からのイ  
ンスリン吸収を測定した。

(結果)

図2に示すように、投与インスリン水溶液をp  
H3とすることによりバイオアベイラビリティー  
はpH7の3倍以上に増加した。

但し、pH3未満では酸性水溶液により肺組織  
が障害を受けるので好ましくない。

4. 図面の簡単な説明

図1は、インスリンの経肺吸収に対する種々の  
吸収促進剤の影響を皮下注射の場合と比較観察し  
たものである。

図2は、投与インスリン水溶液のpHを変えた  
時の血中インスリン濃度を観察したものである。

特許出願人 大正製薬株式会社

代理人 弁理士 北川 富造

図1 インスリンの経肺吸収における種々の吸収促進剤の影響

バイオアベイラビリティーの比較 (%)

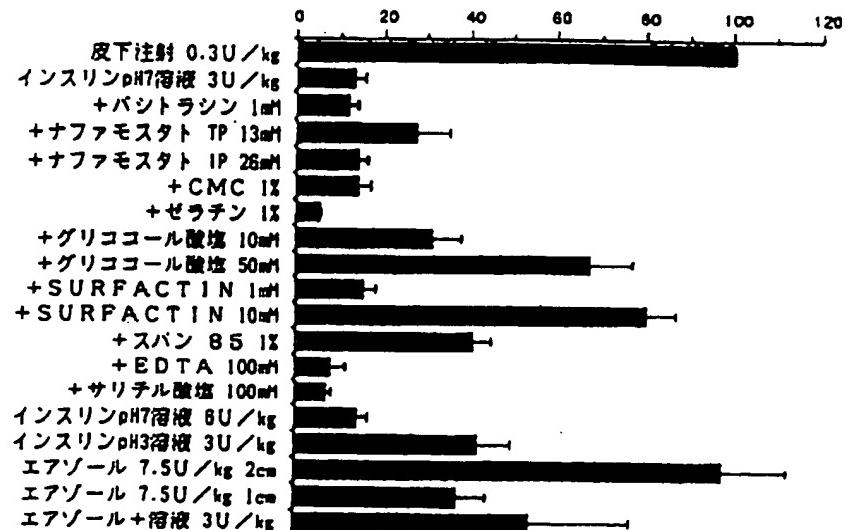


図2 インスリン経肺投与時の血中濃度に及ぼすpHの影響

